

## (19) BUNDESREPUBLIK **DEUTSCHLAND**

# **® Offenlegungsschrift**

## <sub>®</sub> DE 195 42 986 A 1



**DEUTSCHES** 

**PATENTAMT** 

195 42 986.9 Aktenzeichen: Anmeldetag:

Offenlegungstag:

17.11.95

22. 5.97

(6) Int. Cl.6: C 07 D 493/08

C 07 D 493/18 C 07 D 417/06 C 07 D 497/08 C 07 F 7/07 A 01 N 43/90 C 07 F 9/655 A 61 K 31/425

// (C07D 493/08,303:00,315:00) (C07D 493/18,303:00,315:00,321:00) (C07D 497/08,303:00,315:00,327:00) (C07D 417/06,277:24, 303:12) (C07D 417/06,277:24,315:00)

(7) Anmelder:

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH (GBF), 38124 Braunschweig, DE

(74) Vertreter:

Patentanwälte Dr. Boeters, Bauer, Dr. Meyer, 81541 München

2 Erfinder:

Höfle, Gerhard, Prof. Dr., 38124 Braunschweig, DE; Kiffe, Michael, Dr., 38124 Braunschweig, DE

(54) Epothilon-Derivate und deren Verwendung

Die vorliegende Erfindung betrifft Epothilonderivate und deren Verwendung.

15

20

Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein Epothilonderivate und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln. Insbesondere betrifft die vorliegende Er-findung die Herstellung der Epothilonderivate der nachfolgend dargestellten allgemeinen Formeln 1 bis 7 sowie deren Verwendung zur Herstellung von therapeutischen Mitteln und Mitteln für den Pflanzenschutz.

45 
$$OR^2$$
 $X O OR^1$ 

55

In den vorstehenden Formeln 1 bis 7 bedeuten:  $R = H, C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl;

 $R^{1}$ ,  $R^{2}$ ,  $R^{3}$ ,  $R^{4}$ ,  $R^{5}$  = H,  $C_{1}$ - bis  $C_{6}$ -Alkyl,  $C_{1}$ - bis  $C_{6}$ -Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Alkoxy-, C<sub>6</sub>-Alkyl-, Hydroxy- und Halogen-substituiertes Benzyl bzw. Phenyl;

wobei auch zwei der Reste R1 bis R5 zu der Gruppierung  $-(CH_2)n$  - mit n = 1 bis 6 zusammentreten können und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkylbzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt.

In der Formel 1 sind X und Y entweder gleich oder verschieden und stehen jeweils für Halogen, OH, O-(C<sub>1</sub>-bis C<sub>6</sub>)-Acyl, O-(C<sub>1</sub>-bis C<sub>6</sub>)-Alkyl, O-Benzoyl.

In der Formel 3 steht X allgemein für -C(O)-, C(S)-, -S(O)-,  $-CR^1R^2$ -, wobei  $R^1$  und  $R^2$  die Bedeutung haben wie oben angegeben, und -SiR2, wobei R die Bedeutung hat wie oben angegeben.

In der Formel 4 bedeutet X Sauerstoff, NOR3, N-NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, und N-NHCONR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, wobei die Reste R<sup>3</sup> bis R5 die oben angegebene Bedeutung haben.

In der Formel 5 bedeutet X Wasserstoff, C1- bis C<sub>18</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>18</sub>-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 1 sind ausgehend von Epothilon A und B sowie von deren 3-Ound/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Öffnung des 12,13-Epoxids zugänglich. Werden dazu Hydrogenwas-

serstoffsäuren in einem bevorzugt nicht wäßrigen Lösungsmittel eingesetzt, wobei man die Halogenhydrine X = Hal, Y = OH und Y = OH, Y = Hal erhält. 5 Protonensäuren wie z.B. Toluolsulfonsäure und Trifluoressigsäure führen in Gegenwart von Wasser zu 12,13-Diolen, die anschließend nach Standardverfahren acyliert (z. B. mit Carbonsäureanhydriden und Pyridin oder Triethylamin/DMAP) oder alkyliert (Alkylhaloge-10 nide und Silberoxid) werden. Die 3- und 7-Hydroxygruppen können dazu vorübergehend als Formiat (Abspaltung mit NH<sub>3</sub>/MeOH) oder p-Methoxybenzylether (Abspaltung mit DDQ) geschützt werden.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 2 sind 15 aus Epothilon A und B sowie deren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Reduktion, z. B. mit NaBH4 in Methanol erhältlich. Sind dabei 3-OH und/ oder 7-OH reversibel geschützt, so können nach Acylierung oder Alkylierung und Entfernen der Schutzgrup-20 pen 5-O-monosubstituierte, 3,5- oder 5,7-O-disubstituierte Derivate der allgemeinen Formel 2 erhalten wer-

Umsetzungen von Epothilon A und B mit bifunktionellen elektrophilen Reagenzien, wie (Thio)Phosgen, (Thio)Carbonyldimidazol, Thionylchlorid oder Dialkylsilyldichloriden bzw. -bistriflaten ergeben Verbindungen der allgemeinen Formel 3. Als Hilfsbasen dienen dabei Pyridin, Trialkylamine, ggf. zusammen mit DMAP bzw. 2,6-Lutidin in einem nichtprotischen Lösungsmittel. Die 3,7-Acetale der allgemeinen Formel 3 entstehen durch Umacetalisierung z.B. von Dimethylacetalen in Gegenwart eines sauren Katalysators.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 4 werden aus Epothilon A und B oder ihren 3-O- und/oder 35 7-O-geschützten Derivaten durch Ozonolyse und reduktive Aufarbeitung, z. B. mit Dimethylsulfid, erhalten. Die C-16-Ketone können anschließend nach dem Fachmann geläufigen Standardverfahren in Oxime, Hydrazone oder Semicarbazone umgewandelt werden. Sie werden weiterhin durch Wittig-, Wittig-Horner-, Juliaoder Petersen-Olefinierung in C-16/C-17-Olefine über-

Durch Reduktion der C-16-Ketogruppe, z. B. mit einem Aluminium- oder Borhydrid, sind die 16-Hydroxyderivate gemäß der allgemeinen Formel 5 erhältlich. Diese können, wenn 3-OH und 7-OH mit entsprechenden Schutzgruppen versehen sind, selektiv acyliert oder alkyliert werden. Die Freisetzung der 3-OH- und 7-OH-Gruppen erfolgt z. B. bei O-Formyl durch NH<sub>3</sub>/MeOH, bei O-p-Methoxybenzyl durch DDQ.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel 6 werden aus Derivaten von Epothilon A und B erhalten, bei denen die 7-OH-Gruppe durch Acyl- oder Ethergruppen geschützt ist, in dem die 3-OH-Gruppe z. B. formyliert, mesyliert oder tosyliert und anschließend durch Behandlung mit einer Base z. B. DBU eliminiert wird. Die 7-OH-Gruppe kann wie oben beschrieben freigesetzt

Verbindungen der allgemeinen Formel 7 werden aus 60 Epothilon A und B oder deren 3-OH- und 7-OH-geschützten Derivaten durch basische Hydrolyse erhalten, z. B. mit NaOH in MeOH. Die Carboxylgruppe kann mit Diazoalkanen nach Schutz der 19-OH-Gruppe durch Alkylierung in Ester umgewandelt werden.

Die Erfindung betrifft ferner Mittel für den Pflanzenschutz in Landwirtschaft, Forstwirtschaft und/oder Gartenbau, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Epothilonderivate bzw. bestehend aus einem oder mehreren der vorstehend aufgeführten

Epothilonderivate neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

Schließlich betrifft die Erfindung therapeutische Mittel, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen oder einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n). Diese Mittel können insbesondere cytotoxische Aktivitäten entwickeln und/oder Immunsuppression bewirken, so daß sie besonders bevorzugt 10 als Cytostatika verwendbar sind.

Die Erfindung wird im folgenden durch die Beschreibung von einigen ausgewählten Ausführungsbeispielen näher erläutert und beschrieben.

#### **Beispiele**

#### Verbindung 1a

ton gelöst, mit 50 µl (0.649 mmol) Trifluoressigsäure versetzt und über Nacht bei 50°C gerührt zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wer- 25 den mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natrium-sulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schicht-chromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85: 15).

Ausbeute: 4 mg (19%) Isomer I; 4 mg (19%) Isomer II

#### Isomer I:

Rf (Dichlormethan/Aceton, 85:15):0.46 IR (Film):  $\hat{v} = 3440$  (m, b, Sch), 2946 (s, gch), 1734 (vs), 1686 (m), 1456 (m), 1375 (w), 1256 (s, Sch), 1190 (w, b, Sch), 1071 (m, Sch), 884 (w), 735 (w) cm<sup>1</sup>. MS (20/70 ev): m/e (%) = 493 (43 [M-H<sub>2</sub>O]+), 394 (47), 306 (32), 206 (30), 181 (40), 166 (72), 139 (100), 113 40 befreit. (19), 71 (19), 57 (24), 43 (24). Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>O<sub>6</sub>NS ber.: 493.2498 für [M-H<sub>2</sub>O]+ gef.: 493.2478

#### Isomer II:

Rf (Dichlormethan/Aceton 85: 15):0.22. IR (Film):  $\bar{v} = 3484$  (s, b, Sch), 2942 (vs, Sch), 1727 (vs), 1570 (w), 1456 (m), 1380 (m), 1265 (s), 1190 (w), 1069 (m), 50 975 (w), cm<sup>1</sup>.  $MS(20/70 \text{ eV}): m/e(\%) = 493(21[M-H<sub>2</sub>O]^+), 394(12),$ 306 (46), 206 (37), 181 (63), 166 (99), 139 (100), 113 (21), 71 (23), 57 (33), 43 (28). Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>O<sub>6</sub>NS ber.: 493.2498 für [M-H<sub>2</sub>O)+ gef.: 493.2475

#### Verbindung 1b

55 mg (0.111 mmol) Epothilon A werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschlie-Bend wird mit 1 N Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 90:10).

Ausbeute: 19 mg (32%)

Rf (Dichlormethan/Methanol, 90: 10): 0.46. IR (Film):  $\bar{v} = 3441$  (s, br, Sch), 2948 (s, Sch), 1725 (vs, Sch), 1462 (m), 1381 (w), 1265 (m), 1154 (w), 972 (m, br, Sch) cm<sup>1</sup>.

Uv (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$  (lg  $\in$ ) = 210 (4.29), 248 (4.11) nm. MS (20/70 ev): m/e (%) = 529 (13 [M+]), 494 (10), 342 (38), 306 (23), 194 (32), 164 (100), 140 (31), 113 (15), 57 (16). Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>40</sub>O<sub>6</sub>ClNS

ber.: 529.2265 für [M+],

15 gef.: 529.2280

#### Verbindung 1c

25 mg (0.047 mmol) 12-Chlor-13-hydroxy-epothilon A 20 mg (0.041 mmol) Epothilon A werden in 1 ml Ace- 20 (1b) werden in 1 ml Dichlormethan gelöst, mit 29 mg Dimethylaminopyridin, (0.235 mmol)(1.081 mmol) Triethylamin und 20 µl (0.517 mmol) 98%iger Ameisensäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wird mit Eis/Natriumchlorid abgekühlt. Nach Erreichen von -15°C werden dem Reaktionsgemisch 40 μl (0.423 mmol) Essigsäureanhydrid zugegeben und 70 Minuten bei -15°C gerührt. Nach dem ein Dünnschichtchromatogramm keinen vollständigen Umsatz anzeigt, werden dem Reaktionsgemisch weitere 6 mg (0.047 mmol) Di-methylaminopyridin, 7 µl (0.047 mmol) Triethylamin, 2 µl 98%ige Ameisensäure (0.047 mmol) und 4  $\mu$  (0.047 mmol) Essigsäureanhydrid zugesetzt und 60 Minuten gerührt.

> Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch auf 35 Raumtemperatur erwärmt, mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90:10). Ausbeute 1c: 5 mg (18%).

#### Verbindung 1c

Rf (Dichlormethan/Aceton 90:10):0.67. IR (Film): V = 3497 (w, b, Sch), 2940 (s, b, Sch), 1725 (vs), 1468 (m, b, Sch), 1379 (m), 1265 (s), 1253 (s), 1175 (vs), 972 (m, b, Sch), 737 (s) cm<sup>1</sup>. MS (20/70 ev): m/e (%) = 613 (9 [M<sup>+</sup>]), 567 (43), 472 (63), 382 (23), 352 (21), 164 (100), 151 (33), 96 (31), 69 (17), 55 Hochauflösung: C29H40O9NSCl ber.: 613.2112 für [M+] gef.: 613.2131

#### Verbindung 1d

10 mg (0.020 mmol) Epothilon 3 werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschlie-Bend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schicht-chromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85: 15).

Ausbeute: 1 mg (9%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 85:15):0.38. MS (20/70 ev): m/e (%) = 543 (3 [M<sup>+</sup>]), 507 (14), 320 (19), 234 (9), 194 (17), 182 (23), 164 (100), 140 (22), 113 (14), Ausbeute: 14 mg (13%). 71 (13).

Hochauflösung: C<sub>2</sub>H<sub>42</sub>O<sub>6</sub>NSCl ber.: 543.2421 für [M+)

gef.: 543.2405

#### Verbindung 2a

100 mg (0.203 mmol) Epothilon A werden in 4 ml Tetrahydrofuran/1 M Phosphatpuffer pH 7 (1:1) gelöst mit Natrium-borhydrid und solange (150 mg 3.965 mmol) versetzt bis das Edukt laut Dünn-schichtchromatogramm vollständig abreagiert ist. Anschlie-Bend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 verdünnt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt durch Kieselchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 95:5 - grad - nach Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: (20%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 75:25): 0.27. IR (Film):  $\bar{v} = 3413$  (s, b, Sch), 2965 (vs, Sch), 1734 (vs), 1458 (m, b, Sch), 1383 (m, Sch), 1264 (s, b, Sch), 1184 (m, b, Sch), 1059 (s, Sch), 966 (s), 885 (w), 737 (m) cm<sup>-1</sup>. MS (20/70 ev): m/e (%) = 495 (6 [M+]), 477 (8), 452 (12), 394 (9), 364 (16), 306 (49), 194 (19), 178 (35), 164 (100), 140 40 Ausbeute: 1 mg (1%). (40), 83 (21), 55 (27). Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>41</sub>0<sub>6</sub>NS ber.: 495.2655 für [M+] gef.: 495.2623

#### Verbindung 3a-d (a-d sind Stereoisomere)

100 mg (0.203 mmol) Epothilon werden in 3 ml Pyridin gelöst, mit 50 µ (0.686 mmol) Thionylchlorid versetzt und 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschlie-Bend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes und Trennung der vier Stereoisomeren 3a-d erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90:10).

#### Verbindung 3a

Ausbeute: 4 mg (12%).

Rf (Toluol/Methanol 90: 10): 0.50. IR (Film):  $\bar{v} = 2961$  (m, b, Sch), 1742 (vs), 1701 (vs), 1465 (m, Sch), 1389 (m, Sch), 1238 (s, Sch), 1210 (vs, Sch), 1011 (s, Sch), 957 (s, b, Sch), 808 (m, Sch), 768 (s, Sch) cm<sup>-1</sup>. Uv (Methanol):  $\lambda_{max}(lg \in) = 210 (4.50), 248 (4.35) \text{ nm}.$ 

MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (40 [M+]), 457 (22), 362 (16), 316 (27), 222 (30), 178 (30), 164 (100), 151 (43), 96 (38), 69 (29), 55 (28), 43 (20). Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>7</sub>NS<sub>2</sub> ber.: 539.2011 für [M+]

#### Verbindung 3b

Rf (Toluol/Methanol 90: 10): 0.44. IR (Film): v = 2963 (s, br, Sch), 1740 (vs), 1703 (s), 1510 (w), 1464 (m, br, Sch), 1389 (m, Sch), 1240 (s, br, Sch), 1142 (m), 1076 (w), 1037 (w), 1003 (m), 945 (s, br, Sch), 806 (m, Sch), 775 (s), 737 (m) cm<sup>-1</sup>. Uv (Methanol):  $\lambda_{max}$  (Ig  $\in$ ) = 211 (4.16), 250 (4.08) nm. MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (27 [M<sup>+</sup>]), 475 (17), 322 (41), 306 (67), 222 (16), 206 (17), 194 (19), 178 (32), 164 (100), 151 (33), 125 (18), 113 (15), 96 (39), 81 (23), 64 (58), 57 (42), 41 (19). Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>7</sub>NS<sub>2</sub> ber.: 539.2011 für [M+] gef.: 539.1998

#### Verbindung 3c

Ausbeute: 4 mg (4%).

Rf (Toluol/Methanol 90: 10): 0.38. MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (51 [M<sup>+</sup>]), 322 (22), 306 (53), 222 (36), 178 (31), 164 (100), 151 (41), 96 (25), 81 (20), 69 (26), 55 (25), 41 (25). Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>7</sub>NS<sub>2</sub> ber.: 539.2011 für [M+] gef.: 539.2001

#### Verbindung 3d

gef.: 539.1997

Rf (Toluol/Methanol 90: 10): 0.33. MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (69 [M+]), 322 (35), 306 (51), 222 (41), 178 (31), 164 (100), 151 (46), 96 (31), 81 (26), 69 (34), 55 (33), 41 (35). Hochauflösung: C26H37O7NS2 ber.: 539.2011 für [M+]

#### Verbindung 4a

10 mg (0.020 mmol) Epothilon A werden in 2 ml Dichlormethan gelöst, auf -70°C abgekühlt und anschlie-Bend 5 Minuten mit Ozon bis zur schwachen Blaufärbung behandelt. Das resultierende Reaktionsgemisch wird anschließend mit 0.5 ml Dimethylsulfid versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch vom Lösungsmittel befreit und schließlich durch präparative Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton/Methanol, 85:10:5) gereinigt. Ausbeute: 5 mg (64%).

Rf (Dichlormethan/Aceton/Methanol 85:10:5):0.61. IR (Film):  $\bar{v} = 3468$  (s, br, Sch), 2947 (s, br, Sch), 1734 (vs, Sch), 1458 (w), 1380 (w), 1267 (w), 1157 (w), 1080 (w), 982  $(w) cm^{-1}$ . Uv (Methanol):  $\lambda_{max}$  ( $\lg \in$ ) = 202 (3.53) um. MS(20/70 ev): m/e (%) = 398 (2 [M+]), 380 (4), 267 (14), 249 (17), 211 (20), 193 (26), 171 (34), 139 (34), 111 (40), 96 (100), 71 (48), 43 (50). Hochauflösung: C21H34O7 ber.: 398.2305 für [M+]

gef.: 398.2295

#### Verbindung 6a

10 mg (0.018 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A (0.180 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 60 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natriumdihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extra- 15 hiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel be-

Nach Beseitigung des Lösungsmittel wird das resul- 20 Rf (Dichlormethan/Aceton 90:10): 0.55. tierende Rohprodukt in 1 ml Methanol gelöst, mit 200 µl einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol NH<sub>3</sub>/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

#### Ausbeute: 4 mg (22%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 85: 15): 0.46. IR (Film):  $\bar{v} = 3445$  (w, br, Sch), 2950 (vs, br, Sch), 1717 30 gef.: 517.2492 (vs, Sch), 1644 (w), 1466 (m, Sch), 1370 (m, Sch), 1267 (s, br, Sch), 1179 (s, Sch), 984 (s, Sch), 860 (w), 733 (m) cm<sup>-1</sup>. Uv (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}(\lg \in) = 210 \, (4.16) \, \text{nm}$ . MS (20/70 ev): m/e (%) = 475 (28 [M<sup>+</sup>]), 380 (21), 322 20 mg (0.041 mmol) Epothilon werden in 0.5 ml Me-(37), 318 (40), 304 (66), 178 (31), 166 (100), 151 (29), 140 35 thanol gelöst, mit 0.5 ml 1 N Natronlauge versetzt und (19), 96 (38), 81 (20), 57 (26). Hochauflösung: C<sub>26</sub>H<sub>37</sub>O<sub>5</sub>NS ber.: 475.2392 für [M+] gef.: 475.2384

#### Verbindung 6b

50 mg (0.091 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A (werden in 1 ml Dichlorethan gelöst, mit 2 ml (0.013 mol) 1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 45 nol,85:15). 12 Stunden bei 90°C gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natriumdihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel be-

Die Reinigung des aus zwei Verbindungen bestehenden Rohproduktes erfolgt mittels präparativer Schicht- 55 Hochauflösung: C23H37O4NS chromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90 10).

Ausbeute: 7 mg (15%). Substanzcode

Rf (Dichlormethan/Aceton 90:10):0.62. IR (Film): v = 2951 (m, br, Sch), 1723 (vs), 1644 (w, br, Sch), 1468 (w), 1377 (w), 1271 (m, br, Sch), 1179 (s), 987 (m, br, Sch), 735 (w, br, Sch) cm<sup>-1</sup> Uv (Methanol):  $\lambda_{max}$  ( $\lg \in$ ) = 210 (4.44) nm. MS (20/70 ev): m/e (%) = 503 (68 [M+]), 408 (58), 390 (32), 334 (25), 316 (34), 220 (21), 206 (27), 194 (20), 181 (33),

164 (100), 151 (34), 139 (28), 113 (20), 96 (82), 81 (33), 67 (24), 55 (26), 43 (22). Hochauflösung: C27H37O6NS ber.: 503.2342 für [M+] 5 gef.: 503.2303

#### Verbindung 6c

5 mg (0.009 mmol) 3,7-Di-O-acetyl-epothilon werden werden in 1 ml Di-chlormethan gelöst, mit 27 μl 10 in 1 ml Methanol gelöst, mit 150 μl einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol NH3/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei 50°c gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90: 10).

#### Ausbeute: 3 mg (67%).

IR (Film):  $\bar{v} = 2934$  (s, b, Sch), 1719 (vs, b, Sch), 1641 (m), 1460 (m, Sch), 1372 (s, Sch), 1237 (vs, b, Sch), 1179 (s, Sch), 1020 (s), 963 (s, Sch), 737 (vs) cm<sup>-1</sup> Uv (Methanol):  $\lambda_{max}(lg \in) = 210 (4.33)$  nm. 25 MS (20/70 ev): m/e (%) = 517 (57 [M+]), 422 (58), 318 (31), 194 (20), 181 (34), 166 (100), 151 (31), 96 (96), 81 (32), 69 (27), 55 (29), 43 (69). Hochauflösung: C<sub>28</sub>H<sub>39</sub>O<sub>6</sub>NS ber.: 517.2498 für [M+]

#### Verbindung 7a

5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten or-40 ganischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Metha-

#### Ausbeute: 11 mg (52%).

60

Rf (Dichlormethan/Methanol 85:15):0.92. IR (Film): v = 3438 (s, br, Sch), 2971 (vs, br, Sch), 1703 (vs), 1507 (m), 1460 (s, Sch), 1383 (m, Sch), 1254 (w), 1190 (w, br, Sch), 1011 (w, br, Sch), 866 (w, br), 729 (s) cm<sup>-1</sup>. MS (20/70 ev): m/e (%) = 423 (0.1 [M+]), 323 (4), 168 (89), 140 (100), 85 (31), 57 (67). ber.: 423.2443 für [M+] gef.: 423,2410

#### Verbindung 7b

5 mg (0.009 mmol) 7-O-Acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 200 μ einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol NH<sub>3</sub>/ml Methanol) versetzt und zwei Tage bei 50°C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90:10).

Rf (Dichlormethan/Methanol 90 : 10): 0.63. IR (Film):  $\bar{v}=3441$  (m, b, Sch), 2946 (s, Sch), 1732 (vs), 1600 (w), 1451 (m), 1375 (m), 1246 (s, b, Sch), 1013 (m, b,

Sch) cm<sup>2-1</sup>.

Uv (Methanol):  $\lambda_{max}$  (lg  $\in$ ) = 211 (3.75), 247 (3.59) nm. MS (20/70 ev): m/e (%) = 567 (1 [M<sup>+</sup>]), 465 (4), 422 (7), 388 (5), 194 (5), 182 (7), 168 (65), 164 (17), 140 (100), 97 (10), 71 (22), 43 (27).

Hochauflösung: C<sub>29</sub>H<sub>45</sub>O<sub>8</sub>NS ber.: 567.2866 für [M<sup>+</sup>]

gef.: 567.2849

#### Patentansprüche

### 1. Epothilonderivat der Formel 1

wobei R=H,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl;  $R^1$ ,  $R^2=H$ ,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoyl, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt, und X und Y entweder gleich oder verschieden sind und jeweils für Halogen, OH,  $O-(C_1$ - bis  $C_6$ -Acyl,  $O-(C_1$ - bis  $C_6$ -Alkyl, O-Benzoyl stehen.

2. Epothilonderivat der Formel 2

wobei R = H,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl;  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3 = H$ ,  $C_1$ -bis  $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Acyl-Benzoyl,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoxy-,  $C_6$ -Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt. 3. Epothilonderivat der Formel 3

wobei R=H,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl;  $R^1$ ,  $R^2=H$ ,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoyl,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl,  $C_1$ - bis  $C_6$ -Alkoxy-,  $C_6$ -Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt, und X allgemein für -C(O)-, -C(S)-, -S(O)-,  $-CR^1R^2$ - und  $-SiR_2$ - steht, wobei R,  $R^1$  und  $R^2$  die Bedeutung hat wie oben angegeben.

4. Epothilonderivat der Formel 4

55

60

60

65

$$\begin{array}{c|c}
 & 13 \\
 & OR^2 \\
 & OR^2$$

wobei  $R = H, C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl;  $R^1, R^2 = H, C_1$ - bis C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C1- bis C6-Alkoxy-, C6-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl 20 bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt, X Sauerstoff, NOR3, N-NR4R5, und N-NHCONR4R5 bedeutet, wobei die Reste R3 bis R5 die oben angegebene 25 Bedeutung haben.

5. Epothilonderivat der Formel 5

wobei R = H,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl;  $R^1$ ,  $R^2 = H$ ,  $C_1$ - bis 45 C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>4</sub>-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C1- bis C6-Alkoxy-, C6-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradket- 50 tige oder verzweigte Reste handelt, und X Wasserstoff, C<sub>1</sub>- bis C<sub>18</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>18</sub>-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl bedeutet. 6. Epothilonderivat der Formel 6

wobei R = H,  $C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl und  $R^1 = H$ ,  $C_1$ - bis C6-Alkyl, C1- bis C6-Acyl-Benzoyl, C1- bis C4-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C1- bis C6-Alkoxy-, C6-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl ist, und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt.

7. Epothilonderivat der Formel 7

wobei  $R = H, C_1$ - bis  $C_4$ -Alkyl und  $R^1$ ,  $R^2 = H$ ,  $C_1$ bis C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>- bis C<sub>6</sub>-Acyl-Benzoyl, C<sub>1</sub>- bis C4-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C1- bis C6-Alkoxy-, C6-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt.

8. Mittel für den Pflanzenschutz in der Landwirtschaft und Forstwirtschaft und/oder im Gartenbau, bestehend aus einem oder mehreren der Verbindungen gemäß einem der vorangehenden Ansprüche oder einer oder mehreren dieser Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel (n).

9. Therapeutisches Mittel, insbesondere zum Einsatz als Cytostatikum, bestehend aus einer oder mehrerer der Verbindungen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7 oder einer oder mehrerer der Verbindungen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7 neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel (n).